

特种五谷虫脂肪酸的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性及组成分析

华允芬¹, 吴江林², 钱俊青¹

(1. 浙江工业大学药学院 杭州 310014; 2. 浙江省农产品质量监督检验测试中心 杭州 310020)

摘要: 为研究特种五谷虫(大头金蝇 *Chrysomya megacephala* 蝇蛆的俗称)脂肪酸的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性,并确定其组分构成,通过溶剂萃取和油脂酶解获得 2 种脂肪酸 FA1 和 FA2,采用 MTT 法/SRB 法测定其体外抗人白血病细胞 HL-60/人肺癌细胞 A-549 活性,以及采用 Biotin-ELISA 法检测其对 HIV-1 整合酶的抑制作用;并由 GC-MS 分析确定其脂肪酸组成。结果表明:FA1 和 FA2 对人白血病细胞/人肺癌细胞均有显著的抑制活性,其 IC_{50} 值在 35 ~ 65 $\mu\text{g/mL}$;对 HIV-1 整合酶同样具有强烈的抑制活性, IC_{50} 值分别为 86.7 $\mu\text{g/mL}$ 和 98.5 $\mu\text{g/mL}$ 。GC-MS 分析表明,FA1 和 FA2 化学组成相似,均含有 15% ~ 16% 的多不饱和脂肪酸(PUFA),其中有 2 个组分为 ω -6 PUFA。提示特定培养的五谷虫,其脂肪酸成分具有显著的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性,其中含有的 PUFA,尤其 ω -6 PUFA,可能是主要活性组分;FA2 在来源上和 FA1 存有相关性。

关键词: 五谷虫;脂肪酸;抗肿瘤;抗 HIV-1 整合酶

中图分类号:Q965 文献标识码:A 文章编号:0454-6296(2008)02-0137-06

Inhibitory effect of fatty acids from specifically-cultivated *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) larvae on tumor cells and HIV-1 integrase *in vitro* and their ingredient analysis

HUA Yun-Fen¹, WU Jiang-Lin², QIAN Jun-Qing¹ (1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. Center of Inspection and Testing for Quality of Agriculture Products, Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China)

Abstract: The fatty acids FA1 and FA2 from *Chrysomya megacephala* (Fabricius) larvae specifically-cultivated with a patented method were obtained by solvent extraction and oil enzymolysis. Their inhibitory effect on tumor cells *in vitro* was studied by MTT assay and SRB assay, as the antagonistic effect on HIV-1 integrase was studied by Biotin-ELISA. The ingredient analysis of the fatty acids was carried out by GC-MS. The results showed that both FA1 and FA2 had remarkable inhibitory activities against human leukemia cells HL-60 and human lung cancer cells A-549, with IC_{50} ranged within 35 – 65 $\mu\text{g/mL}$. And both of them were also found to inhibit HIV-1 integrase intensively, with IC_{50} 86.7 $\mu\text{g/mL}$ and 98.5 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The results of GC-MS analysis showed the similarity of chemical composition between FA1 and FA2, with the same content of 15% – 16% PUFA, from which two ω -6 PUFAs were identified. Thus it is concluded that the fatty acids from specifically-cultivated *C. megacephala* larvae have significant inhibitory effect on tumor cells and HIV-1 integrase *in vitro*, with PUFA, especially ω -6 PUFA, as the main active components potentially. In addition, FA2 was inferred to have correlation with FA1 in origin.

Key words: *Chrysomya megacephala* larvae; fatty acid; anti-tumor; anti-HIV-1 integrase

恶性肿瘤和 HIV-1 是人类最为严重的两大致死性疾病,因此寻找有效的抗癌、抗 HIV-1 药物,彻底攻克恶疾,是世界医学界重要的研究课题。近年来,合成类化学药在临床治疗方面取得了显著的进展,但强毒副作用使得其应用受到局限,因而开发高效、无毒的抗癌、抗 HIV-1 药物为势之所趋。我国传统中药在治疗肿瘤/HIV-1 方面具有作用机制独特、效果显著、毒副作用小等特点,备受患者青睐(郑红等, 2005; 刘兆梅等, 2006)。

已有文献报道(汪灏, 2004; 巩涛和李勇, 2006), 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)在抗肿瘤、免疫活性调节等方面发挥重要的作用,尤其是 ω -3/ ω -6 PUFA。五谷虫是大头金蝇 *Chrysomya megacephala* 蝇蛆的俗称,为我国传统中药材。据《本草纲目》记载,具有清热解毒、健脾化食、除小儿疳积等功效,药用价值颇高。因其体内蛋白质含量较高,现时多用作高蛋白饲料。经作者多年探索研究发现,利用特定条件培养的特种五谷虫,在体外具有良好的抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性,而脂肪酸为主要活性物质。为此,本实验就其体外活性及化学组成进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

五谷虫由杭州安能生物科技有限公司提供,其养殖技术已申请技术专利(专利申请号 200510060277.4,公开号 CN1736186)。收集培育成熟的五谷虫活体,40℃烘干,机械粉碎,粉末于干燥器保存。

肿瘤细胞株:人白血病细胞株 HL-60 和人肺癌细胞株 A-549,由中国科学院上海药物研究所提供。

主要试剂:中性脂肪酶(lipase, EC3.1.1.3, 8 000 U/g, 海宁金潮实业); HIV-1 整合酶(HIV-1 IN, 中科院上海药物所提供); MTT、SRB 和 CHAPS (Sigma); 顺铂(DDP, 山东德州制药厂); 其余试剂为分析纯。

主要仪器:高速离心机 Allegra 64R (Beckman, 美国),冷冻干燥机 LABCONCO 6L (LABCONCO, 美国),酶标仪 PowerWave XS (Bio-tek, 美国),气相色谱-质谱联用仪 Trace GC 2000/DSQ (ThermoFinnigan, 美国),Xcalibur 色谱系统工作站。

1.2 方法

1.2.1 五谷虫脂肪酸的制取:取五谷虫粉末,用 10

倍体积分数乙酸乙酯在 50℃水浴下提取 2 h,抽滤后滤液加适量水,用 0.5 mol/L NaOH-EtOH 溶液进行碱化滴定(酚酞试剂判定终点),离心分离两相。其中有机相减压蒸干溶剂后得油脂类物质 LO,水相经 1.0 mol/L HCl 酸化后用乙酸乙酯萃取,利用减压浓缩、冷冻干燥去除溶剂后的萃取物即为脂肪酸 FA1 (鲍丹等, 2006)。

取一定量固形物 LO,溶于乙酸乙酯,与含有脂肪酶(1 U 酶量/1 mg 底物)的磷酸缓冲液(pH 7.1)相混合,于 40℃水浴搅拌反应 2 h(搅拌速率为 500 r/min)。用乙醇终止反应后,有机相部分依次通过碱化、酸化,使得脂肪酸在水/有机相中转换,最后萃取获得酶解产物脂肪酸 FA2 (王英雄等, 2003)。

1.2.2 抗肿瘤活性实验:人白血病细胞 HL-60 采用四氮唑盐还原法(microculture tetrazolium, MTT) (曹小红等, 2006; 朱京童等, 2007),人肺癌细胞 A-549 则采用磺酰罗丹明 B 蛋白染色法(sulforhodamine B, SRB) (陈陵际等, 2002; Hou *et al.*, 2007)测定。

1.2.2.1 MTT 法:用含 10%小牛血清的 RPMI-1640 培养液将对数生长期的肿瘤细胞配制成 1×10^5 /mL 浓度,接种于 96 孔培养板内。每孔 100 μ L,于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养 24 h。同时根据实验设计加入药液,使接入的样品最终浓度为 4, 16, 63, 250, 1 000 μ g/mL。样品接入量为 10 μ L,每组 3 复孔。阴性对照用相应培养液代替,阳性对照为 DDP。培养 72 h 后,每孔加入 MTT 液 20 μ L,继续孵育 5 h,离心弃上清液,每孔加入 DMSO 100 μ L 溶解,过夜,用酶标仪测 A 值, $\lambda = 570$ nm。肿瘤细胞生长抑制率 = $(1 - A_{\text{实验}}/A_{\text{对照}}) \times 100\%$,半数抑制浓度 IC₅₀ 采用 Logit 法计算。

1.2.2.2 SRB 法:肿瘤细胞的培养方法及条件参数与 MTT 法相同,作用时间为 72 h。样品作用后,去上清液,用 10%冷三氯乙酸(TCA)固定细胞,静置 5 min 后,于 4℃放置 1 h,用去离子水反复洗涤沉淀,甩干,空气中自然干燥至无湿痕。每孔加 0.4% SRB 溶液 100 μ L,常温下染色 15 min,去上清液,用 1%醋酸反复洗涤,空气中自然干燥。最后每孔加 150 μ L Tris 溶液萃取,用酶标仪测 A 值, $\lambda = 540$ nm。

1.2.3 抗 HIV-1 整合酶活性: Biotin-ELISA 法测定 HIV-1 整合酶活性(郭志敏等, 2002; 冯微宏等, 2007)。供体底物: 5'-ACCCTTTTAGTCAGTGTGGAA AATCTCTAGCAGT-3'; 3'-GAAAATCAGTCACACCTTT TAGAGATCGTCA-5'; 靶底物: 5'-TGACCAAGGG CTAATTCAGT-3'-biotin; biotin-3'-ACTGGTTCCCGAT

TAAGTGA-5′(上海生工合成)。首先将供体底物包被在 96 微孔板中,分别加入反应缓冲液(30 mmol/L Tris-HCl、15 mmol/L MnCl₂、100 μg/mL BSA、1% 甘油、10 mmol/L DTT、20 mmol/L NaCl 和 0.5 mmol/L CHAPS)样品和整合酶,37℃反应 1 h,加靶底物,再反应 1 h,用磷酸缓冲液(PBS)洗板,最后以生物素标记的碱性磷酸酶系统显色,测定 A₄₀₅ 值。以苏拉明(suramin)为阳性对照,抑制率和 IC₅₀ 的计算方法同 MTT 法。

1.2.4 脂肪酸组成分析:(1)脂肪酸的甲酯化:取适量脂肪酸样品置于 20 mL 试管中,加入 4 mL 苯-石油醚(V:V = 1:1)混合溶剂使之溶解,再加入 0.4 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 4 mL,混匀,50℃~55℃恒温水浴 30 min 后加 10 mL 去离子水,静置分层,取上清液作 GC-MS 分析试样。(2)GC-MS 分析条件:GC 条件:毛细管色谱柱 DB-5MS(0.32 mm×30 m×0.25 μm);进样口温度为 250℃;升温程序:起始温度为 80℃,保持 1 min,以 10℃/min 升至 200℃,保持 5 min,再以 1℃/min 升至 220℃,维持 2 min,然后以 8℃/min 升至 280℃,维持 3 min。载气为高纯度氦气;柱内载气流量 1.0 mL/min;分流比为 20:1;进样量 2 μL;汽化室温度为 250℃。

MS 条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,离子源温

度 200℃,传输线温度 250℃,接口温度 250℃,溶剂延时 4 min,扫描范围 40~600 amu(何志勇和夏文水,2006)。

2 结果与分析

2.1 抗肿瘤活性

FA1 和 FA2 对体外肿瘤细胞生长的影响见表 1。结果表明,五谷虫脂肪酸对人白血病细胞和人肺癌细胞生长在低浓度水平(10⁻⁵)就有明显的抑制活性,其 IC₅₀ 均低于 70 μg/mL。其中 FA1 对 HL-60 和 A-549 的 IC₅₀ 值分别 36.9 μg/mL 和 40.4 μg/mL,FA2 相对应 IC₅₀ 值分别 55.0 μg/mL 和 62.4 μg/mL,两者相差不大(FA1 活性略高),推测其化学组成比较接近。同时由表 1 可知,两种脂肪酸对肿瘤细胞生长的抑制作用呈现良好的量效关系。

2.2 抗 HIV-1 整合酶活性

五谷虫脂肪酸对 HIV-1 整合酶活性的影响见表 2。结果表明,两种脂肪酸都具有很强的抗 HIV-1 整合酶活性,其 IC₅₀ 值分别为 86.7 μg/mL 和 98.5 μg/mL,FA1 略强于 FA2。两者与阳性对照相比,虽差了 1 个数量级,但来源天然性是其优势。

表 1 五谷虫脂肪酸的体外抗肿瘤活性

Table 1 Inhibitory activities of fatty acids from <i>Chrysomya megacephala</i> larvae against cancer cells in vitro							
肿瘤细胞株 Cancer cell lines	样品 Samples	抑制率 Inhibitory rate(%)					IC ₅₀ (μg/mL)
		1 000 μg/mL	250 μg/mL	63 μg/mL	16 μg/mL	4 μg/mL	
人白血病细胞株 HL-60 Human leukemia cell lines HL-60	FA1	94.6	94.3	94.3	15.5	4.1	36.9
	FA2	92.5	91.0	81.3	13.7	2.6	55.0
	阴性对照 Negative CK	0					
	阳性对照 Positive CK						10.9
人肺癌细胞株 A-549 Human lung cancer cell lines A-549	FA1	93.3	94.2	93.8	10.9	3.5	40.4
	FA2	92.9	90.7	91.4	4.2	1.8	62.4
	阴性对照 Negative CK	0					
	阳性对照 Positive CK						8.6

表中抑制率为 3 孔数值的平均数;表 2 同。The inhibitory rate in table is a mean of three assays. The same for Table 2.

表 2 五谷虫脂肪酸对 HIV-1 整合酶的抑制作用

Table 2 Inhibitory effects of fatty acids from <i>Chrysomya megacephala</i> larvae on HIV-1 integrase in vitro						
样品 Samples	抑制率 Inhibitory rate(%)					IC ₅₀ (μg/mL)
	1 000 μg/mL	250 μg/mL	63 μg/mL	16 μg/mL	4 μg/mL	
FA1	92.4	92.8	40.4	9.6	1.0	86.7
FA2	93.5	89.6	35.4	7.9	0.7	98.5
阴性对照 Negative CK	0.4					
阳性对照 Positive CK						5.1

2.3 脂肪酸 GC-MS 分析

FA1 和 FA2 的气相色谱图见图 1,通过 Xcalibur 工作站 NIST02 标准图谱库进行检索,确定各组分,

并用面积归一法定量分析各组分的相对质量分数,结果见表 3~4。

由表 3~4 可见,FA2 和 FA1 的脂肪酸组成较为

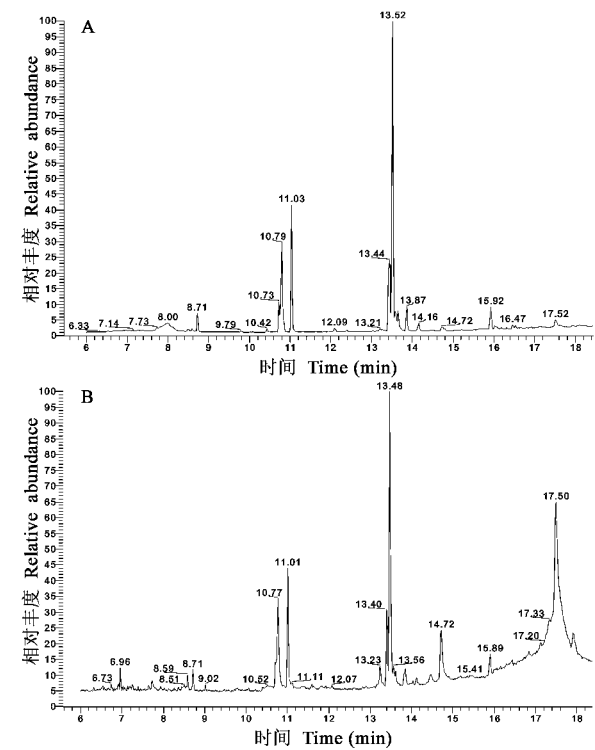


图 1 FA1(A)和FA2(B)的总离子色谱图
Fig. 1 TIC of FA1 (A) and FA2 (B) from *Chrysomya megacephala* larvae

相似,从 FA2 中检出的 9 种脂肪酸在 FA1 中皆存在,FA2 仅仅比 FA1 少了 C22:4, C20:3 和 C20:2 三种脂肪酸;而且,各成分所占的相对质量分数在 FA1 和 FA2 中也较接近,其中饱和脂肪酸(SFA):单不饱和脂肪酸(MUFA):多不饱和脂肪酸(PUFA):之比分别为 20.6:63.0:16.4 和 23:62.3:14.7。由此可以推测,五谷虫体内的油脂 LO,即酶解产生 FA2 的底物,其代谢途径很可能是体内游离脂肪酸(FA1)的非选择性合成,脂肪酸 FA2 来源于 FA1,这恰也说明了 FA1 和 FA2 在生物活性方面的相似性,印证了前述的活性实验结果。

由 GC-MS 分析结果可知,PUFA 在 FA1 和 FA2 中占有一定的比例(15%~16%),其中 9,12-亚油酸和 5,8,11,14-花生四烯酸为 ω -6 PUFA。

3 讨论

现代研究表明,五谷虫具有多种活性物质,如所含的几丁质能显著降低大鼠血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平。本实验以特定条件培养的五谷虫为对象,研究其脂肪酸的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性及组分构成。

表 3 FA1 的脂肪酸组成

Table 3 The ingredients of fatty acid in FA1 from *Chrysomya megacephala* larvae

序号 No.	保留时间(min) Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量(%) Relative content
1	8.71	十四烷酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	2.09
2	10.73/10.79	9-十六碳烯酸 9-hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	15.16
3	11.03	棕榈酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	14.99
4	13.44	9,12-亚油酸 9,12-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	9.97
5	13.52	9-油酸 9-oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	41.89
6	13.58	10-油酸 10-oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	5.96
7	13.87	硬脂酸 Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.54
8	14.16	7,10-亚油酸 7,10-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.31
9	15.92	5,8,11,14-花生四烯酸 5,8,11,14-arachidonic acid	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	3.93
10	16.18	6,9,12,15-二十二碳四烯酸 6,9,12,15-docosatetraenoic acid	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	0.37
11	16.31	7,10,13-花生三烯酸 7,10,13-eicosatrienoic acid	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	0.24
12	16.47	10,13-花生二烯酸 10,13-eicosadienoic acid	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0.55

表 4 FA2 的脂肪酸组成				
Table 4 The ingredients of fatty acid in FA2 from <i>Chrysomya megacephala</i> larvae				
序号 No.	保留时间(min) Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量(%) Relative content
1	8.71	十四烷酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	2.98
2	10.77	9-十六碳烯酸 9-hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	18.13
3	11.01	棕榈酸 Palmic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	16.71
4	13.40	9 ,12-亚油酸 9 ,12-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	10.39
5	13.48	9-油酸 9-oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	39.55
6	13.56	10-油酸 10-oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	4.62
7	13.84	硬脂酸 Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.31
8	14.13	7 ,10-亚油酸 7 ,10-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.20
9	15.89	5 ,8 ,11 ,14-花生四烯酸 5 ,8 ,11 ,14-arachidonic acid	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	3.11

研究结果表明 ,两种来源的脂肪酸 FA1 和 FA2 对人对白血病细胞株 HL-60 及人肺癌细胞株 A-549 的生长均有明显的抑制作用 ,其 IC₅₀ 值在 30 ~ 65 μg/mL ;另外对 HIV-1 整合酶也具有强烈的抑制活性 ,其 IC₅₀ 值在 80 ~ 100 μg/mL。HIV-1 整合酶是 HIV pol 基因 3'端编码的蛋白质 ,其功能是将逆转录病毒的 cDNA 整合到宿主细胞的基因组中。HIV 分 HIV-1 和 HIV-2 两种类型 ,目前主要以 HIV-1 为普遍。研究表明 ,逆转录酶(reverse transcriptase) 蛋白酶(protease)以及整合酶是 HIV-1 复制过程中的 3 个关键酶 ,抑制关键酶的活性可抑制病毒。目前用于临床治疗 HIV-1 的药物只有逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂 ,而无整合酶抑制剂。如能研发出整合酶抑制剂类新型抗 HIV-1 药物 ,与已有的抗 HIV-1 药物联合使用组成新的用药方案 ,不仅可提高疗效 ,也可延缓耐药性的产生。无疑 ,整合酶将是研究抗 HIV-1 药物的新靶点(姜晓华和龙亚秋 2004)。

PUFA ,尤其是 ω-3/ω-6 PUFA 在人体内具有重要的意义 ,不仅影响人体的生长发育、智力发展、神经系统功能的完善 ,且对人心血管系统起到积极的作用。随着研究的深入 ,发现 PUFA 在抗肿瘤、免疫调节等方面也具有独特的作用。本研究结果发现 ,该五谷虫含有 15% ~ 16% 的 PUFA ,其中两个组分为 ω-6 PUFA ,我们推断这部分可能是五谷虫脂肪酸具有显著的体外抗肿瘤、抗 HIV-1 整合酶活性的物质基础。至于体内活性 ,有待进一步研究。

参 考 文 献(References)

Bao D ,Tao NP ,Liu MK ,2006. Extraction and refinement of fish oil from *Scortum barcoo* as well as analysis of its fatty acid. *Food Science* , 27 (7): 169 – 173. [鲍丹 ,陶宁萍 ,刘茗柯 ,2006. 宝石鱼油的提取、精制及其脂肪酸组成的分析. 食品科学 , 27 (7): 169 – 173]

Cao XH ,Zhou Q ,Wang CL ,2006. Inhibition of K562 cell growth *in vitro* by the extract of *Musca domestica* larvae. *J. Chin. Inst. Food Sci. Technol.* , 6 (1): 316 – 319. [曹小红 ,周强 ,王春玲 ,2006. 工程蝇蛆体内活性物质体外抗肿瘤作用的研究. 中国食品学报 , 6 (1): 316 – 319]

Chen LJ ,Han JX ,Yang WY ,Lu LJ ,Zhang JL ,Yang QL ,Yuan ST ,Ding J ,2002. Inhibition of mixture of lucid ganoderma and lucid ganoderma spore on tumor cell *in vitro* and *in vivo* . *Cancer* , 21 (12): 1 341 – 1 344. [陈陵际 ,韩家娴 ,杨蔚怡 ,陆丽娟 ,张家骊 ,杨秋龙 ,袁胜涛 ,丁健 ,2002. 灵芝精粉和孢子粉混合物抑制肿瘤细胞生长的实验研究. 癌症 , 21 (12): 1 341 – 1 344]

Feng WH ,Huang JS ,Zhan JB ,2007. Analysis on bioactivity of HIV-1 integrase by ELISA method. *J. Zhejiang Univ. (Med. Sci.)* , 36 (2): 179 – 184. [冯微宏 ,黄建松 ,詹金彪 ,2007. ELISA 法分析 HIV-1 整合酶的生物学活性. 浙江大学学报(医学版) , 36 (2): 179 – 184]

Gong T ,Li Y ,2006. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on cell cycle and apoptosis of human gastric cancer cell line BGC-823. *Chin. J. Clin. Nutr.* , 14 (2): 77 – 81. [巩涛 ,李勇 ,2006. ω-3 多不饱和脂肪酸对人胃癌 BGC-823 细胞周期及凋亡的影响. 中国临床营养杂志 , 14 (2): 77 – 81]

Guo ZM ,Chen HS ,Wang L ,2002. Studies on the inhibition of polyhydroxylated aromatic compounds against HIV-1 integrase. *Acta Pharm. Sin.* , 37 (4): 253 – 256. [郭志敏 ,陈鸿珊 ,王琳 ,2002. 多羟基芳香族化合物对 HIV-1 整合酶的抑制作用. 药化学报 ,

37(4):253–256]

He ZY , Xia WS , 2006. Analysis of fatty acid composition in olive kernel oils from *Canarium album* and *Phyllanthus emblica* by GC/MS. *Food Science* , 27(3):188–190. [何志勇, 夏文水, 2006. 两种不同橄榄核仁油中脂肪酸组成的 GC/MS 分析. *食品科学* , 27(3):188–190]

Hou LX , Shi YH , Zhai P , Le GW , 2007. Antibacterial activity and *in vitro* anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*). *J. Ethnopharm.* , 111:227–231.

Jiang XH , Long YQ , 2004. Structurally diverse HIV-1 integrase inhibitors : past , present and perspective. *Chin. J. Org. Chem.* , 24(11):1380–1388. [姜晓华, 龙亚秋, 2004. 结构多样的 HIV-1 整合酶抑制剂 : 过去、现在和未来. *有机化学* , 24(11):1380–1388]

Liu ZM , Yang YS , Wang XL , Wen RX , 2006. Recent progress on anti-HIV research of traditional Chinese medicine and components. *China J. Chin. Mat. Med.* , 31(21):1753–1758. [刘兆梅, 杨怡姝, 王小利, 温瑞兴, 2006. 抗 HIV 的中药及其有效成分研究进展. *中国中药杂志* , 31(21):1753–1758]

Wang H , 2004. Effects of ω -3 polyunsaturated fatty acids on immune cell. *Parent. Ent. Nutr.* , 11(5):304–308. [汪灏, 2004. ω -3 多不饱和脂肪酸对免疫细胞功能的影响. *肠外与肠内营养* , 11(5):304–308]

Wang YX , Hou XL , Wang GF , Du JM , Qiao XG , Qin ZF , Wang JG , 2003. Comparison of the catalytic property of different lipases in linseed oil hydrolysis reaction. *Chin. Oils Fats* , 28(8):54–56. [王英雄, 侯相林, 王国富, 杜俊民, 乔欣刚, 秦张峰, 王建国, 2003. 不同脂肪酶催化亚麻油水解反应性性能的比较. *中国油脂* , 28(8):54–56]

Zheng H , Zhou YJ , Wang XY , 2005. Developments of anti-tumor drug research. *Chin. J. New Drugs Clin. Rem.* , 24(2):139–143. [郑红, 周有骏, 王小燕, 2005. 抗肿瘤药物研究进展. *中国新药与临床杂志* , 24(2):139–143]

Zhu JT , Bai Y , Si WX , Liu HX , Ren QH , 2007. Study about anti-tumor effect of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel extracts *in vitro*. *Carcinogen Teratogen Mutagen* , 19(1):67–69. [朱京童, 白玉, 司文秀, 刘洪喜, 任曲辉, 2007. 中药白头翁提取物抗肿瘤活性的体外实验研究. *癌变. 畸变. 突变* , 19(1):67–69]

(责任编辑 : 黄玲巧)